5

1er CONGRÈS INTERNATIONAL

DE PATHOLOGIE COMPARÉE

Paris, 17-23 Octobre 1912

EXTRAIT

MASSON ET Cie, Éditeurs.

1er CONGRÈS INTERNATIONAL DE PATHOLOGIE COMPARÉE
Paris, 17-23 Octobre 1912.

LE CANCER EST-IL UNE MALADIE DU RÈGNE VÉGÉTAL?

Par M. le Dr ERWIN F. SMITH
Chef du Laboratoire de Pathologie végétale au Ministère d'Agriculture à Washington, D. C., U. S. A.

Les tumeurs des plantes sont connues dans toutes les parties du monde, et ont des causes variables. Je n'ai, comme exemple de la 1re partie de cet argument, qu'à mentionner les innombrables galles d'insectes et les excroissances vulgaires des arbres des forêts. Les preuves de la 2e partie de l'argument se trouvent dans le fait que la cause exacte de beaucoup de ces excroissances est connue; et que, au moyen de ces causes, les particularités de la croissance peuvent être reproduites. Toutes ces causes sont des êtres vivants, des parasites.

La structure anatomique de ces excroissances varie indéfiniment. Pour s'en convaincre, il suffit de faire des coupes de différents types de galles d'insectes, ou d'excroissances causées par différentes sortes de champignons.

L'effet de ces excroissances anormales sur le cours de la vie des plantes est également variable. Pour s'en assurer, il suffit de comparer l'action destructive des galles de champignon comme celles qui résultent de l'*Albugo* (*Cystopus*) sur des Crucifères, ou de *Plowrightia morbosa* sur les prunes et les cerises, avec le développement lent et peu nuisible de beaucoup de sortes de broussins ligneux d'origine inconnue qu'on remarque sur une grande quantité d'arbres.

Il semblerait donc qu'il y a une variété aussi grande d'excroissances parmi les plantes que parmi les animaux. Ces excroissances, considérées cliniquement, comme dans le cas des tumeurs chez les animaux, se rangent depuis les tumeurs bénignes jusqu'aux tumeurs pernicieuses. Le sujet est digne de l'attention de la pathologie comparée.

En effet les plantes, en somme, ne sont pas, dans leur essence, différentes des animaux ; et l'étude de leurs tumeurs peut prouver précisément ce qui est nécessaire pour éclairer l'étiologie du cancer chez l'homme et chez les animaux.

Par conséquent, nous nous proposons de passer brièvement en revue la nature de certaines de ces excroissances des plantes et de les comparer avec les tumeurs semblables chez les animaux.

L'action d'un parasite quelconque sur les tissus des plantes, dans le cas où il peut causer des excroissances par irritation, semble à 1re vue dépendre en grande partie du nombre de parasites présents, et de leur situation particulière dans les tissus. Par exemple dans les galles d'insectes, l'irritation se découvre centralement et consiste en excrétions d'une ou de plusieurs larves dans des poches séparées ou bien réunies dans un nid, une tumeur, laquelle est généralement spécifique pour l'espèce particulière envisagée, et dont toutes les parties sont arrangées conformément à la source centrale de l'irritation. La croissance cesse aussitôt que la larve, ayant atteint sa maturité, prend sa liberté comme insecte parfait. En conséquence, les galles de ce type, particulièrement celles qui sont causées par les Cynipidées, ont une structure spécifique et une croissance limitée. Si, au contraire, la source de l'irritation qui cause la galle ou excroissance, est un parasite mouvant comme par exemple le mycélium croissant d'un champignon, la structure de la tumeur est plus ou moins irrégulière, d'une forme variable et mouvante. L'apparence externe de cette tumeur et sa structure interne varient avec la croissance du parasite. Ceci est démontré par nombre de galles de champignon bien connues : galles dues à des espèces d'*Albugo*, à certains champignons de rouilles, e. g. *Peridermium*, *Uromyces*, *Puccinia*, ou encore à *Sphaeropsis tumefaciens* qui est la cause de l'excroissance mycélienne et funeste des arbres citronniers des Indes occidentales, laquelle cause a été récemment démontrée dans mon laboratoire. En dernier lieu, ces galles peuvent être dues à la présence de microbes variés tels que la tuberculose de l'olivier que chacun connaît et qui doit son existence à *Bacterium Savastanoi*. On pourrait encore citer d'autres exemples. Dans tous ces cas le parasite est capable de déplacement; par suite, la source de l'irritation se déplace, et les changements qui surviennent dans l'excroissance sont en rapport avec le déplacement; tandis que dans les galles d'insectes le parasite est presque immobile ou se meut en rond dans sa petite chambre.

L'action stimulante du champignon parasite s'étend dans certains cas plus particulièrement sur le bois, et dans d'autres premièrement sur le parenchyme. Dans le premier cas, les résultats sont une structure ligneuse et dure; dans le second, une excroissance molle et périssable. Comme exemple des premiers cas, nous avons les excroissances des arbres citronniers des Indes occidentales dont nous avons

déjà parlé, et les excroissances sur certaines espèces de Pins dues au champignon *Peridermium*. Comme exemples du dernier, citons les excroissances molles et spongieuses dues au champignon *Exoascus* sur le pêcher, au champignon *Exobasidium* sur le Vaccinium, et au champignon *Ustilago* sur le maïs. D'autres exemples des deux types se présentent immédiatement au mycologue éclairé.

La dimension des cellules qui font partie de ces excroissances est aussi variable que la nature des tissus eux-mêmes. Dans deux types remarquables des excroissances dans les plantes : les nodosités de racine qu'on rencontre dans les légumineuses et qui sont dues à *Bacterium leguminosarum*, et la hernie des Crucifères due à *Plasmodiophora brassicae*, les cellules individuelles des tissus spécialement irritées par la présence du parasite sont énormément enflées.

Dans d'autres cas, parmi de nombreuses et différentes excroissances, la plus grande partie de l'excroissance est le résultat, non pas de l'énorme extension de quelques cellules, mais de la multiplicité anormale d'un grand nombre de cellules qui restent petites, de façon que dans un cas nous apercevons principalement l'hypertrophie des cellules, tandis que dans l'autre cas, c'en est l'hyperplasie.

Le stimulus de l'excroissance peut venir d'un organisme situé à l'intérieur de la cellule, ou bien il peut résulter de la présence d'un organisme qui occupe les espaces intercellulaires normaux, ou qui est encore situé dans des cavités anormales dues à la destruction de certaines cellules. Le stimulus, dans ces cas et, à ce qu'il paraît, probablement dans tous les autres, peut agir à distance. Nous pouvons supposer que ce « stimulus » est une substance chimique.

Enfin, les parasites déterminant ces excroissances peuvent être nombreux et facilement visibles, ou en petit nombre et difficiles à voir.

En termes de pathologie animale, les tumeurs qui résultent de la présence de ces parasites peuvent être comprises dans la classe des « granulomata » ou dans la classe des vraies tumeurs. Dans la 1re, les tumeurs secondaires sont le résultat de la migration directe du parasite, qui, dans la nouvelle place qu'il occupe, excite les tissus environnants, comme il l'a fait dans la place où il était précédemment. Dans la 2e classe, la cellule de la plante elle-même est le corps migrateur stimulé par quelque parasite intra-cellulaire. Dans ce cas, bien entendu, le parasite est emporté dans d'autres parties du tissu où les tumeurs secondaires se produisent. Mais le parasite ne se meut pas de lui-même, c'est plutôt un prisonnier dans les cellules pullulantes de son hôte ; il ne se trouve nul autre lieu que le siège originaire de la maladie, si ce n'est qu'il est transporté dans les cellules, avec leur

propre croissance, d'une partie à une autre de la plante hospitalière.

Ce type de maladie végétale intéresse aujourd'hui la pathologie animale presque à l'exclusion des autres types, pour cette raison qu'il ressemble de très près à celui qu'on trouve dans les tumeurs pernicieuses des animaux. La connaissance que nous avons de ce fait est aussi très récente. A vrai dire, cette découverte a été faite et signalée, il y a moins de deux ans, par l'auteur de ces pages.

Quittons un moment ce sujet et jetons un rapide coup d'œil sur quelques-uns des phénomènes ordinaires de la tumeur chez l'homme et chez les animaux inférieurs. Comme chacun le sait, les tumeurs chez l'homme et chez les animaux sont divisées cliniquement en deux classes : les bénignes et les pernicieuses ou malignes. La raison de ces deux termes est que les bénignes ne causent pas de tumeurs destructives secondaires, tandis que les malignes trahissent une tendance marquée à se reproduire à une distance plus ou moins grande de la tumeur primitive au moyen de portions migratrices des tissus de cette dite tumeur.

Il y a deux formes de migration. Dans la 1re, la tumeur brûle ses vaisseaux derrière elle, pour ainsi dire; dans la 2e, des attaches reliées entre elles sont laissées entre les tumeurs secondaires et les tumeurs initiales. C'est une sorte de chaîne de cellules cancéreuses, connues sous le nom de racine, de pédicelle ou de cordon. Comme exemple de la 1re, nous pouvons citer beaucoup de formes de tumeurs pernicieuses où se trouve une vraie métastasie, c'est-à-dire où de petits fragments des tissus malins faiblement réunis, se séparent du corps pour être entraînés dans la circulation du sang ou de la lymphe. De cette manière ces fragments se logent dans des organes distants, où ils se développent en tumeurs malignes plus ou moins semblables à la tumeur parente.

Nous avons un exemple de la seconde forme dans le carcinome du sein où les racines de la tumeur primitive envahissent les vaisseaux lymphatiques, souvent à une distance considérable de la tumeur primitive. Plus tard des portions de ces racines se développent en tumeurs secondaires. Chorio-épithélioma en est un autre exemple. Car, bien que dérivant d'un embryon, c'est une croissance anormale et maligne qui s'étend très loin de sa position normale et qui doit être sous l'influence d'une profonde excitation anormale. Les savants qui s'occupent de la pathologie animale ont délimité avec une précision un peu rigide, à ce qu'il semble, les tumeurs pernicieuses où les cellules de l'animal hospitalier, agissant sous une excitation inconnue, sont la cause de la croissance anormale, et d'autre part, les granulo-

mata, comme la tuberculose ou l'actinomycose, dans lesquelles un parasite visible est la cause de la tumeur primitive, et dans lesquelles aussi les migrations directes sont la cause de toute tumeur secondaire. Quant à moi, je pense que la distinction entre des maladies telles que la tuberculose ou la lèpre et les tumeurs malignes des animaux n'est pas aussi radicale que certains histologistes sont portés à le croire. Mais ceci est en dehors de la question qui nous occupe, et seulement une remarque en passant.

Malgré les vaillants efforts de beaucoup de savants du monde entier, la cause des tumeurs malignes chez l'homme et les animaux est restée inconnue. Pendant bien des années, pour les pathologistes, le cancer s'est dressé comme le sphynx terrible aux questions insolubles. En effet, maintenant que l'étiologie de la syphilis est découverte, on peut dire que le cancer est le dernier grand problème de la pathologie humaine qui reste dans les ténèbres de l'incertitude. Une théorie après l'autre n'a été proposée que pour être rejetée et le découragement est le sentiment qui prévaut chez la plupart des spécialistes. La majeure partie de ceux-ci ont abandonné la croyance à un parasite, mais ne sont pas arrivés à découvrir aucune autre explication satisfaisante de son étiologie. Bien que cette manière de voir soit universellement répandue parmi les histologistes, l'attitude des cliniciens et des chirurgiens, au contraire, est demeurée pendant longtemps en faveur de la théorie parasitaire, attitude qui peut être représentée en disant que le cancer (considéré dans le sens large de toute tumeur maligne), si l'on s'en tient à la façon dont il se comporte, doit avoir pour cause certaine la présence d'un parasite.

Revenons maintenant au côté végétal de la question. Comme certains d'entre vous le savent, l'auteur de ce travail a été, pendant ces 26 dernières années, chargé d'étudier les maladies des plantes pour le Gouvernement fédéral des États-Unis. Durant ces 20 dernières années, il a consacré une grande partie de son temps à élucider les problèmes difficiles qui se rapportent au parasitisme bactérien dans les plantes. Quand il commença ses expériences sur les végétaux, il y a 20 ans, on ne connaissait presque rien de ce type de maladies des plantes et bien des gens en niaient l'existence. Aujourd'hui on est d'accord pour admettre qu'un grand nombre de maladies des plantes ont comme origine des parasites bactériens. L'auteur de ces pages croit avoir contribué pour sa part à la lumière jetée sur la question.

Ces maladies des plantes peuvent être divisées sommairement en 3 groupes, à savoir :

1° Les maladies bactériennes au cours desquelles le micro-organisme fait sentir son énergie sur le système vasculaire et qui ont pour conséquence le flétrissement de la plante;

2° Les maladies au cours desquelles l'action principale est surtout d'une nature dissolvante sur le milieu de la lamelle du parenchyme, la conséquence étant la décomposition des tissus;

3° Certaines maladies dans le cours desquelles on remarque une excroissance spéciale due à la présence du parasite bactérien dans les tissus de la plante. Ce 3e groupe pourrait être subdivisé en 3 sections :

a) *Granulomata*, dans lequel le parasite se multiplie abondamment, est facilement reconnu au microscope, occupe des pochettes ou de petites cavités dans la tumeur d'où il excite les cellules environnantes qui deviennent alors une excroissance : la tuberculose de l'olivier en est un exemple frappant, et la tuberculose de la betterave à sucre, due à *Bacterium beticolum*, récemment décrite, en est un autre;

b) Les croissances bénignes circonscrites. Les racines nodulées des légumineuses en forment l'exemple le plus frappant. Ici les bactéries sont aussi très nombreuses et faciles à voir, colorées ou non. Au lieu d'occuper les espaces intercellulaires, et de grandes ou petites cavités dans les tumeurs, comme dans la 1re section, elles occupent l'intérieur des cellules du parenchyme, gonflent énormément certaines cellules et en détruisent le contenu. Ce gonflement est si remarquable, que, dans les coupes microscopiques, à 1re vue, on ne voit rien d'autre que des cellules fortement élargies et où fourmillent des milliers de microbes. En regardant d'un peu plus près on peut fréquemment observer que parmi ces cellules énormément gonflées sont de petites cellules dans lesquelles le microbe n'a pas pénétré. Ces cellules normales servent peut-être à conserver vivants, pour un temps plus long, les tissus de ces nodules. La dimension des cellules occupées par ces bactéries est souvent dix à vingt fois celle des cellules normales (comme dans le cas des cellules de la hernie du chou). Dans chacun de ces deux cas, c'est le parasite lui-même qui émigre pour former des accroissements de la tumeur primitive ou de nouveaux développements en forme de tumeurs secondaires. Dans la tuberculose de l'olivier, les microbes de la tumeur primitive montent ou descendent la tige à travers les vaisseaux en spirale. Si ces microbes trouvent un terrain propice, ils se multiplient au point d'occasionner une excitation nouvelle avec production de tubercules secondaires, lesquels fendent la tige pour apparaître à sa surface.

Le canal de migration dans le bois d'olivier (je l'ai vu moi-même)

peut être généralement observé à la loupe en sections transversales de la tige, comme une petite tache noire, ou en sections longitudinales comme une étroite ligne noire. Parfois, en comprimant des tiges ainsi affectées, une légère quantité de bactéries exsude du canal de migration. Chaque fois qu'on examine des sections transversales avec un microscope à fort grossissement, on découvre facilement les bactéries individuelles dans de tels canaux. On y trouve ordinairement une désorganisation plus ou moins grande des vaisseaux en spirale dans la région protoxilème, dont un petit nombre seulement sont occupés par les microbes. Beaucoup de tubercules de l'olivier qui font leur apparition après l'infection première ne sont pas cependant le résultat des déplacements internes des bactéries. Au contraire, elles sont dues à des infections superficielles tardives (Horne). Ces infections résultent de fissures légères, comme celles que produisent l'arrachement de feuilles ou de tiges, ou encore les blessures des grêlons. Entraînées par la rosée ou par la pluie de la surface de la tumeur primaire sur toutes les parties superficielles de l'arbre les matières infectieuses pénètrent aisément par ces blessures.

Si nous considérons les nodules des légumineuses, il semble clairement démontré par les recherches de différents savants que la bactérie infectieuse émigre d'une portion à l'autre des tissus comme un cordon compact de bactéries, en forme de zooglée. Ce cordon pénètre les tissus, se ramifiant à intervalles pour infecter çà et là des cellules avoisinantes. Cette infection se produit par *action en masse*, c'est-à dire que le cordon bactérial se fixe à la cloison cellulaire et la pénètre par son action dissolvante, d'ordinaire par une très faible ouverture.

c) La 3e section du troisième groupe des infections bactériennes sur les plantes, peut être appelée : vraies tumeurs. La « crown gall » en est le seul exemple connu. Ici, pas de parasite visible, ou du moins qui puisse être vu sans beaucoup de difficulté; pas de cavités bactériennes, pas davantage de pullulation de l'organisme dans le système vasculaire (à l'exception peut-être de quelques vaisseaux occasionnellement infestés par des microbes dans le voisinage d'une piqûre); pas de bactéries dans les espaces intercellulaires.

Tout ce qu'on peut voir dans ce type de maladies bactériennes, c'est le pullulement des tissus de l'hôte. En d'autres termes la cellule elle-même est le parasite, à ce qu'il paraît, après une observation rapide. Cependant, ne perdez pas de vue que maintenant je parle seulement de phénomènes apparents, et non pas de celui qui se passe réellement dans la cellule. Tout est obscur. En conséquence, je puis dire, sans hésitation, que, si je n'avais pas découvert un schizomycète

intra-cellulaire qui, par son action stimulante sur le noyau, fait naître une division anormale de la cellule, d'où résulte une tumeur considérable (hyperplasia), nous en serions au même point que les spécialistes du cancer qui soutiennent que la cellule elle-même est le seul parasite qui soit. Pourtant, cette théorie, chère à beaucoup de spécialistes, a été renversée par les recherches du Dr Peyton Rous, de New-York, qui a démontré d'une façon concluante qu'un sarcome de poule, dont l'étiologie est inconnue, peut être reproduit en l'absence de la cellule sarcomateuse. Il en a reproduit souvent par des fluides tout à fait privés des cellules de la tumeur, soit par filtration au filtre Berkefeld, soit par centrifugation ; il en a reproduit de même avec des cellules sarcomateuses détruites par la chaleur ou le froid, et finalement (*Am. Assoc. for Cancer Research*, avril 1912) avec des cellules sarcomateuses *séchées pendant plus de six mois.*

Mettant de côté, pour le présent, la question de parasitisme en cette maladie de « crown gall », nous nous demandons d'abord : Quelle est l'action de cette cellule végétale cancéreuse? Après avoir décrit la manière dont elle se comporte, et après avoir fait quelques comparaisons entre les tumeurs malignes chez les animaux, je reviendrai à la question de l'évidence du parasitisme, et je montrerai ce qui incite les cellules de ces plantes à se comporter d'une manière aussi anormale.

Quand une « crown gall » apparaît sur une plante, il y a une énorme excroissance des tissus. Quelques tissus ligneux sont toujours compris dans cette excroissance, mais sa plus grande partie se compose de cellules parenchymateuses, même quand elle est située dans des organes où, par leur nature, la masse des tissus est de bois. En d'autres termes, le système conducteur subit une diminution, se tord et s'amincit de différentes manières, et les tissus plus tendres se multiplient dans des proportions étonnantes. Par cette manière d'excitation se produit une tumeur qui atteint quelquefois le diamètre d'une tête humaine, et souvent la dimension du poignet. Les tumeurs secondaires dérivent des tumeurs primitives de la façon suivante : la tumeur primitive rejette des cordons, de ses parties plus profondes, dans les tissus normaux. Sur des portions variées de ces cordons, des tumeurs secondaires se développent, qui finissent par détruire les tissus environnants, et se forcent un passage à la surface de la plante. De telles tumeurs ont dans leur structure les caractères histologiques de la tumeur primitive. Dans la marguerite de Paris, par exemple, le cordon de tumeur est logé dans la région protoxylème du bois, c'est-à-dire dans cette partie de la tige, près de la moelle, où sont situés les délicats vaisseaux primaires en spirale. On a trouvé

ces cordons de tumeurs en haut aussi bien qu'en bas de la tige, particulièrement vers le haut, dans les tissus plus tendres de la tige, et à l'intérieur de nombreuses feuilles où se développent des tumeurs secondaires. On ne sait pas jusqu'où le cordon peut s'étendre ; mais on a pu le suivre jusqu'à une distance de 2 décimètres. Si une tumeur *primaire* se produit sur la feuille d'une marguerite, soit naturellement, soit par inoculation, la structure de cette feuille est absolument différente de la structure d'une tumeur secondaire qui se développe sur une feuille, et dont les cellules ancestrales ont leur origine dans une tumeur de la tige. En d'autres termes, les cellules de la tumeur secondaire de la feuille reproduisent la structure d'une tige parce que les cellules du cordon qui a causé le développement de la tumeur secondaire ont leur origine dans une tumeur primitive de la tige. Au contraire, dans la tumeur primitive de feuille aucune structure de tige n'est visible. Nous avons ainsi un phénomène de pullulement anormal de cellules qui aboutit à une structure à peu près semblable à celle de quelques cancers chez les animaux où les tumeurs secondaires sont dérivatives d'un cordon ou racine ayant son origine dans une tumeur primitive. Nous n'avons trouvé aucun cas de vraie métastasie dans la plante, j'entends où certains groupes de cellules de tumeur, faiblement reliés à leurs semblables, ont été déplacés et entraînés dans le flot du sang ou dans les lymphatiques, pour former de nouvelles croissances qui ne sont pas reliées à la tumeur primitive et qui en sont éloignées. Mais là n'est pas, j'en réponds, la marque essentielle de la croissance maligne. La chose essentielle, c'est le *pouvoir propulseur*, le quelque chose qui nous échappe encore et qui change les cellules normales en cellules cancéreuses en donnant lieu, après cette conversion, à un pullulement incalculable.

La plante est dépourvue de sang qui circule et ses tissus sont reliés ensemble plus intimement que les tissus parenchymateux des animaux. En conséquence, nous pouvons nous attendre — si toutefois le cancer existe chez les plantes — à découvrir une pseudo-métastasie à cordon, comme celle qui se produit dans le cancer du sein, à l'exclusion des véritables croissances métastatiques. En « crown gall » la croissance du cordon de la tumeur originelle et la formation des tumeurs secondaires en portions de ce cordon et à distance de la tumeur primitive, suggère d'une façon étonnante ce qui a lieu dans certaines tumeurs malignes des animaux. Les tissus de la plante ainsi multipliés hors de leur place semblent être un corps aussi étranger que le mycélium d'un champignon ou les racines parasites d'un gui. Les tissus qui composent ce corps sont ceux de la plante, mais des

tissus se multipliant hors de place avec une action destructive sur les tissus voisins. Par exemple, dans les tumeurs secondaires, sur les feuilles des marguerites, tous les tissus normaux entourant la croissance secondaire interne à sa naissance sont graduellement écrasés et fondus dans des directions variées et finalement détruits par la tumeur en progrès. Il n'en reste qu'un corps grossier et irrégulier sans aucune ressemblance avec la feuille dans laquelle il a pris naissance, mais qui, comme je l'ai dit, simule une tige, avec cette différence que le nombre des tissus ligneux se trouve réduit, le parenchyme étant proportionnellement accru, de telle façon que quelques mois plus tard les tissus tombent en décomposition. De plus, comme dans le cas de carcinoma, les tissus malins ont une attraction notable pour certaines couleurs d'aniline. Au contraire, comme chez les sarcomes les tissus vasculaires sont amincis et anormaux de bien des manières. De plus, comme dans les sarcomes, les jeunes plantes, ou les portions de vieilles plantes qui poussent rapidement, sont les plus favorables au développement de ce genre de croissances. Il est difficile de les produire dans les plantes qui poussent lentement, impossible dans les plantes dormantes. La tumeur initiale, dans chaque cas que nous avons remarqué, a son origine dans une blessure ou une lésion quelconque, mais là seulement où le parasite est présent.

L'action destructive de cette maladie des plantes est aussi variable que l'est celle des tumeurs chez les animaux. Les médecins de grande expérience savent parfaitement que, pour une raison inconnue, le cancer disparaît quelquefois. Les objections à cette vue sont fondées principalement sur une évidence négative, pour cette raison que les formes malignes qui conduisent à la mort sont celles qui généralement attirent l'attention des chirurgiens et des médecins. Il est probable, cependant, mais on ne sait ni pourquoi ni comment, que beaucoup de cas de cancers disparaissent d'eux-mêmes du corps de l'homme et de l'animal. C'est du moins ce que tend à démontrer certaine évidence clinique et histologique. Quoi qu'il en soit, il est certain que dans la « crown gall » chez les plantes, l'intensité de l'influence pernicieuse est extrêmement variable et fréquemment la tumeur semble causer peu de mal à la plante. Cela est surtout vrai de beaucoup d'arbres, le pommier par exemple. Au contraire, dans certains cas individuels, même chez le pommier, et à un haut degré, dans certaines espèces tout entières, cette tumeur semble être destructive en dépit de son action lente. Chez la vigne, beaucoup de souches attaquées par cette tumeur périssent en l'espace de 3 ou

4 ans. L'action de cette tumeur sur l'amandier, le pêcher, le framboisier et le rosier est lentement destructive. Autant que j'ai pu l'observer souvent cette tumeur n'affecte pas sérieusement la marguerite, surtout si cette plante est d'une certaine grosseur au moment de l'inoculation. Souvent la betterave à sucre, bien que très promptement sensible à l'inoculation, n'est pas affectée sérieusement. De jeunes boutures de marguerites aussi bien que d'autres plantes sont fréquemment tuées; des branches individuelles, très souvent, souffrent du manque de nourriture et meurent. Le rosier souffre à un tel point que fréquemment il faut en abandonner la culture. L'exemple est fréquent de sa mort due au développement de la tumeur ou à des affections secondaires pénétrant par des blessures ouvertes occasionnées par l'escarre de la tumeur. L'effet le plus injurieux sur le pommier des États-Unis est dû à un autre fait, la pénétration de parasites secondaires par les blessures ouvertes. La nature de la plante est si différente de celle de l'animal, en ce qu'il n'y a pas chez elle de circulation générale du sang ni de système nerveux qui puisse être déprimé et par suite agir d'une façon désastreuse sur tout le système, que même si le cancer existe chez les plantes, on ne peut s'attendre à des résultats aussi désastreux que dans les animaux à organisation supérieure. Bien plus, les plantes supérieures peuvent être considérées comme une *congérie* d'individus unis, plutôt qu'un individu distinct, tel que l'homme ou les animaux supérieurs. Par conséquent, si l'on trouve des tumeurs de plantes qui correspondent aux tumeurs malignes des animaux, nous devons nous attendre à telles différences, en malignité, que nous avons signalées.

Nous pouvons nous demander maintenant : 1° Quelle évidence y a-t-il que cette croissance, décrite comme analogue à celle des tumeurs malignes chez les animaux soit en effet due à un microorganisme? 2° Quelle preuve y a-t-il que ce micro-organisme limite son action au noyau de la cellule?

Depuis 8 ans, des recherches ininterrompues sur cette maladie se poursuivent sous ma direction au Ministère de l'Agriculture des États-Unis, et nous avons reproduit la maladie sur des plantes variées, plus de 1500 fois. Ces inoculations ont été faites au moyen de cultures pures descendues des colonies obtenues sur gélose versée dans des boîtes de Petri. Bien souvent nous avons conservé une grande quantité de plantes de contrôle qui étaient restées saines. Ayant choisi une jeune plante à croissance rapide pourvue de 2 branches jumelles, sur l'une d'elles j'ai fait 50 piqûres à l'aide d'une aiguille stérile, et sur l'autre 50 piqûres d'aiguille infectée : dans le 1er cas

aucun résultat ; dans le 2e, 50 tumeurs (Voy. *Phytopathology*, vol. I, n° 1, planche 2). Mainte et mainte fois nous avons cultivé cet organisme de l'intérieur des tumeurs ainsi obtenues, pour reproduire, par sous-cultures de ces colonies, la même tumeur sur d'autres plantes. Les expériences ont été répétées si souvent, depuis tant d'années, et dans des conditions si variées, qu'il n'y a pas le moindre doute quant à l'organisme en question, ou sa manière générale d'agir sur la plante ou sur des milieux artificiels. Ceux qui désirent des détails au sujet de la nature parasite de cet organisme ou de ses caractères de culture, peuvent consulter le bulletin 213, Bureau of Plant Industry, Ministère de l'Agriculture des États-Unis, qui peut être procuré par le Superintendent of Ducuments, Government Printing Office, Washington D. C. (Prix 2 fr. 50.) Des copies de ce bulletin ont été distribuées généreusement dans les différents pays d'Europe. L'évidence étiologique est démontrée *in extenso* dans ce bulletin, nous passerons donc rapidement sur cette phase de la question. J'ai donné des cultures de cet organisme à différents savants d'Europe. Quelques-uns d'entre eux ont reproduit cette maladie sur la betterave à sucre et d'autres plantes. Parmi ces savants je peux nommer : Dr Jensen, de Copenhague, et Dr Peklov, de Prague qui m'a envoyé une photographie d'une betterave inoculée, sur laquelle apparaît une tumeur aussi typique qu'aucune de celles obtenues aux État-Unis.

Le bulletin 255, publié par le Bureau of Plant Industry, des États-Unis, en juin 1912, donne de nombreuses photographies montrant l'apparence générale des tumeurs primitives et secondaires, aussi bien que l'anatomie histologique du cordon de la tumeur, en même temps que celle des tumeurs primitives et secondaires. En confirmation de mes assertions, relatives à l'histologie des tumeurs, on peut consulter les photomicrographies de ce bulletin. On peut se le procurer en s'adressant au Superintendent of Documents, Government Printing Office, Washington, D. C. (Prix 5 francs.) Ce bulletin, lui aussi, a été généreusement distribué en Europe.

La démonstration du micro-organisme dans les tissus des tumeurs en se servant des couleurs d'aniline a été une des plus grandes difficultés de ces recherches. Pendant de longues années nous étions sûrs que l'organisme existait dans les cellules anormales parce que nous pouvions l'isoler de tumeurs par culture sur gélose en boîte de Petri, et parce que nous n'avons rien vu dans les vaisseaux ni dans les espaces intercellulaires. Mais quand nous avons essayé de colorer l'organisme dans les tissus, nous avons découvert que c'était im-

possible par le « Gram » ; que cet organisme n'était pas acidophile ; et que lorsqu'il se colorait, le protoplasme des cellules se colorait également. Des granules en si grand nombre et si variés apparaissaient colorés sur l'image obtenue au microscope, qu'il nous était impossible de reconnaître avec certitude si les quelques corps en forme de baguette que nous voyions dans les cellules étaient réellement des bactéries, ou simplement des corps constituants de la matière cellulaire. On a essayé bien des fois de colorer en deux nuances afin de différencier l'organisme d'aussi près que possible. Nous savions que cet organisme devait être à l'intérieur des cellules, pour la raison que les espaces intercellulaires sont dépourvus non seulement de bactéries mais encore de petites particules d'aucune sorte ; pour la raison aussi qu'en sont dépourvus les vaisseaux eux-mêmes. Si nous supposons à cet organisme une dimension visible au microscope, ce que l'on était autorisé à croire par sa dimension sur culture artificielle, la seule place où il puisse être situé est à l'intérieur de la cellule. L'emploi d'une grande variété de couleurs d'aniline et de différentes méthodes préliminaires pour fixer les tissus, n'a pas réussi. Au début, nos efforts se sont portés principalement sur d'autres phases des recherches, mais, pendant ces 5 dernières années, nous avons tenté souvent et ardemment de colorer l'organisme à l'intérieur des cellules. Le résultat général de ces essais par des teintures d'aniline a été très décourageant. En dernier ressort, je résolus d'abandonner ce procédé et d'essayer d'autres méthodes, employant des sels de métaux tels que argent, or, platine. D'abord, nous avons essayé, sans beaucoup de succès, l'imprégnation au nitrate d'argent. Cependant nous avons fini par obtenir des images claires du micro-organisme à l'intérieur des cellules, avec le chlorure d'or, grâce à une légère modification de la méthode d'or introduite par Löwitt, il y a longtemps, pour les extrémités des nerfs des fibrilles musculeuses. Par cette méthode de traitement le micro-organisme devient fortement coloré, bleu-noir, tandis que le protoplasme de la cellule et le contenu du noyau ne sont pas influencés par la couleur, pas plus que la cloison de la cellule. L'image ainsi obtenue est plutôt vague, mais on peut la préciser autant qu'on le désire par une légère addition de traitement à l'éosine, procédé qui rend visibles les cloisons des cellules et la matière protoplasmique.

Il ressort que l'organisme n'est pas très abondant dans les cellules et est restreint, à ce qu'il semble, à une petite portion du nombre total des cellules formant la tumeur. La morphologie dans la cellule est essentiellement celle du même organisme qui a crû dans les cul-

tures artificielles sous des conditions quelque peu anormales, c'est-à-dire sous des conditions comme celles qui mènent, dans la culture en tube ou en flacon, à la production de formes involutées claviformes, en Y, ou en ramifications variées. Ces formes sont très communes dans les cultures de *Bact. tumefaciens*, soumises au froid, ou à l'action de légères quantités d'acide qui s'y produit soit à cause de leur croissance en présence de certaines sortes de sucre, soit à cause de l'addition directe d'acide dilué dans de jeunes cultures. Ces corps en forme d'Y ont été observés il y a plusieurs années et rapportés dans le premier bulletin dont nous avons parlé (nº 213). Á cette époque, nous ne les avions pas encore découverts dans les plantes, mais j'avais la certitude qu'ils s'y trouvaient et que nous devions arriver à les voir. L'action générale des couleurs sur le contenu tout entier de la cellule nous empêchait de les voir. Finalement, leur présence a été démontrée dans les tissus de la tumeur par la méthode indirecte suivante : la surface d'une tumeur jeune fut stérilisée entièrement et rognée, alors, du dedans, à l'aide de couteaux stérilisés, on en prit des tranches. Ces tranches furent placées sur des lames de verre stériles dans de l'eau stérile, pour permettre au contenu des cellules de se disperser dans l'eau pendant environ une heure. Ensuite les tranches furent enlevées au moyen d'un forceps stérile, le fluide légèrement brumeux, séché sur les lames de verre, puis coloré. L'étude de telles lames, faites de plusieurs tumeurs, a démontré la présence, en très petite quantité, de baguettes bactériennes ordinaires et aussi de corps en forme d'Y très distincts, comme nous en avions produits à volonté, par l'addition d'acide acétique dilué, dans des cultures jeunes. Le meilleur moyen pour découvrir ces corps en forme d'Y est de se servir d'un objectif à immersion d'huile, d'avancer et de reculer les lames de verre jusqu'à ce que le tout ait été examiné avec soin dans le cours de plusieurs heures ou de plusieurs jours. C'est ainsi que nous avons découvert qu'à peu près un champ sur quatre contenait un de ces corps en Y. Notre connaissance des corps en Y dans les tissus de la tumeur n'alla pas plus loin jusqu'au jour où nous découvrîmes enfin qu'ils étaient susceptibles d'être colorés d'une manière différentielle au moyen du chlorure d'or. Ils ont été colorés par cette méthode, démontrés sans le moindre doute dans certaines cellules intérieures de plusieurs tumeurs, et photographiés. Le fait qu'ils se produisent dans l'intérieur des cellules indique que les bactéries sont là sous des conditions anormales, aussi bien qu'ils sont dans nos flacons auxquels nous avons ajouté du sucre ou de l'acide dilué. Je ferai remarquer maintenant deux particularités

d'ordre différent, qui me semblent avoir une portée remarquable sur la présence de ces corps en Y dans les tissus des tumeurs et sur leur connexité à la tumeur comme substance excitante.

Nous pouvons répéter ici ce que nous avons dit dans un de nos bulletins : Bien que j'aie eu de bonnes raisons de croire que la tumeur de la marguerite de Paris était due à la bactérie, d'après l'examen des premières coupes non coloriées examinées par moi il y a 8 ans, parce qu'alors j'avais vu quelques petites masses informes de bactéries en des endroits mal déterminés dans le tissu de la tumeur, et, en outre, à cause de certaines ressemblances de ce tissu avec l'histologie du tubercule d'olivier que j'étudiais alors, et que je savais être d'origine bactérienne; malgré tout cela, je fais cette déclaration : 2 années se sont écoulées avant que nous ayons été à même d'isoler le parasite du tissu de la tumeur. Devant nous se dressaient deux difficultés imprévues, incalculables à cette époque, mais desquelles on se joue maintenant : 1° L'organisme n'existe à l'état vivant, à l'intérieur du tissu de la tumeur, qu'en petit nombre; le plus grand nombre sont morts. 2° Les organismes qui restent vivants dans ce tissu sont, du moins pour la plupart d'entre eux, en état de coma, de sorte qu'ils ne peuvent pas pousser immédiatement quand ils sont soumis à la culture artificielle. Ignorant le 1er de ces deux faits, nous employions généralement pour nos cultures en boîte de Petri une quantité beaucoup trop petite des tissus de la tumeur. Je n'ai aucun doute, depuis que nous avons fait beaucoup de cultures sur gélose en boîte de Petri, dans lesquelles aucune colonie de *Bact. tumefaciens* n'apparaissait parce que pas un seul microbe vivant n'y avait été introduit, car nous avions pris pour nos inoculations une trop petite quantité du tissu de la tumeur. Plus tard, nous avons découvert que pour obtenir des colonies de cet organisme, il nous fallait prendre une quantité considérable de ce tissu de tumeur, l'écraser, et le laisser dans un bouillon une heure ou deux avant de prendre une dose de ce bouillon pour inoculer la gélose liquéfiée, afin de la verser dans les boîtes de Petri. Le plus souvent nous obtenions un chiffre assez maigre de colonies de l'espèce désirée. Notre difficulté repose dans le fait que nous n'avons pas conservé assez longtemps en observation nos cultures sur gélose en boîte de Petri. Les saprophytes qui sont fréquemment observés dans les tumeurs croissent le plus souvent rapidement sur gélose et ces saprophytes étaient les 1ers organismes que nous ayons obtenus et étudiés. Ces organismes étaient transportés, sous-cultivés, examinés au microscope, et inoculés, dans des plantes, mais sans résultat. Ainsi nous fîmes pendant beaucoup de

mois sans succès, et nous étions découragés. Ni champignons, ni insectes ne furent découverts dans ces tumeurs. Je n'admettrai jamais qu'ils puissent apparaître en l'absence de parasites. Cela m'apparaît déraisonnable. En conséquence je décidai de continuer ces études malgré tous les découragements. D'habitude, après 3 ou 4 jours nous rejetions ces cultures en boîte de Petri pour en faire de nouvelles 1 semaine ou 2 plus tard, à l'aide d'autres tumeurs. Il nous a fallu environ 2 ans pour apprendre que si nous désirions obtenir des cultures de *Bact. tumefaciens* sur gélose en boîte de Petri, nous devions non seulement inoculer largement, mais aussi attendre plus de 4 jours. Il faut habituellement de 5 à 7 jours, 10 quelquefois et dans certains cas 15 ou 20 jours avant que l'organisme paralysé puisse retrouver sa vigueur normale, se développer en colonie sur nos géloses en boîte de Petri. Notre gélose est préparée avec du bouillon de bœuf contenant 1 % de peptone de Witte, 1 % de gélose, alcalisée avec l'hydrate de soude, à + 1,5 % employant la phénolphthaléine comme indicateur. Après avoir découvert et surmonté ces difficultés, tout devenait simple, excepté comme je l'ai déjà dit, la grande difficulté de colorer différentiellement les microbes dans les cellules de la plante hospitalière, et cet autre fait, à sa place ici, mais admis avec un peu de chagrin, que je n'ai pas remarqué pendant plus de 5 années, l'existence du cordon de la tumeur et de la remarquable structure de tige dans les tumeurs secondaires des feuilles, pour la raison, je pense, que presque tous mes efforts étaient dirigés vers d'autres phases de la recherche. Depuis que ces faits sont précisés, il nous a été facile d'obtenir l'organisme de tumeurs récentes et de reproduire la maladie sur des plantes saines.

Un de nos confrères a soulevé l'objection que le développement initial tardif sur gélose pouvait être dû simplement à un milieu différent et peu propre, plutôt qu'à un état de paralysie des bactéries dérivées pendant son séjour dans les tissus de la tumeur. Cela, j'en suis persuadé, n'est pas juste parce que :

1° Les bactéries ne sont pas toujours paralysées dans le tissu de la tumeur, bien qu'elles le soient généralement. Il arrive quelquefois, quand les cultures sont faites avec de très jeunes parties des tumeurs, que les colonies de l'organisme en question sont obtenues sur gélose dès le 3e jour. Cela détruit l'argument que c'est le changement de milieu qui cause le développement tardif des colonies obtenues directement. Bien plus, les bactéries ne sont pas inhibées sensiblement par notre gélose, comme le démontre la croissance active des sous-cultures prises de ces premières colonies tardives.

2° Il y a une paralysie de la bactérie dans la tumeur qui, dans beaucoup de cas, amène la mort : cela est démontré, je pense, par ce fait qu'à aucune période il n'y a beaucoup d'organismes vivants dans les tissus de la tumeur et que souvent il n'y en a pas du tout dans les tissus des tumeurs âgées, comme l'a démontré la méthode de culture.

3° Chaque fois qu'un micro-organisme, quel qu'il soit, a passé de sa forme normale à la forme de massue ou celle d'Y, qui sont des formes d'involution, il est mort ou dans un état comateux duquel il revient fréquemment dans une culture appropriée. Tous les bactériologues le savent. Bien plus, par l'addition d'une petite quantité d'acide acétique à une jeune culture de *Bact. tumefaciens*, non seulement avons-nous produit ces corps en Y à volonté, mais aussi nous avons démontré par culture que la majeure partie de ces organismes sont morts et que le reste est endormi et revient lentement en gélose, exactement comme fait ordinairement l'organisme obtenu directement de la tumeur.

Finalement, j'ai obtenu chez des poissons inoculés avec cet organisme, l'indication, du moins, de croissances qui me semblent suggérer le sarcome. Je parlerai peu de ces inoculations chez les animaux, car je ne suis pas aussi sûr de mon terrain, et en plus parce que je n'ai pas obtenu de grandes et d'éclatantes croissances, comme cela a eu lieu dans mes plantes de contrôle. Le fait est que les résultats de mes premières inoculations faites sur des truites de ruisseau, il y a bientôt cinq ans, m'avaient tellement découragé que je me contentai de fixer le matériel et n'en fis aucune coupe pendant près de 2 ans. Il me vint alors à l'idée que, tandis que je n'avais pas obtenu de croissances frappantes sur les poissons, cependant, les coupes microscopiques pouvaient me donner des indications utiles. Des coupes furent faites d'un certain nombre de poissons inoculés, et, bien que quelques-unes d'entre elles indiquassent ce que je crus être seulement une inflammation au voisinage des piqûres, d'autres donnèrent des indications de ce qui me semble être les débuts du sarcome. Le sujet m'intéressait suffisamment pour me faire répéter la même expérience cette année; j'ai de nouveau obtenu ce que je crois être une substitution des cellules de tissus connectifs à la place de fibrilles musculeuses chez plusieurs poissons inoculés. Mais une fois de plus, aucune tumeur bien développée. Je ne sais pas si de telles tumeurs peuvent être produites chez les poissons avec *Bact. tumefaciens*, mais les résultats obtenus me semblent suffisamment intéressants pour être répétés pour la 3e fois l'hiver prochain.

Dans aucune de ces expériences, je n'ai introduit de substances

irritantes en même temps que les bactéries, mais j'ai l'intention d'en faire où j'introduirai, en même temps que l'organisme, de petites quantités de terre diatomacée, dans l'espoir que, par les petites blessures de beaucoup de cellules, il serait possible d'introduire dans leur intérieur les bactéries qui, de cette façon, se trouveraient protétégées contre l'action destructive des leucocytes. Je crois réussir à produire des tumeurs chez des animaux à sang froid, par des inoculations de cet organisme; mais je ne demande à personne de le croire. En fait, je n'ai jamais affirmé que cet organisme (*Bact. tumefaciens*) fût la cause des tumeurs malignes chez les animaux à sang chaud; mais ce que je crois, et ce que j'ai affirmé aussi vigoureusement que possible, est que la maladie qu'il produit dans les plantes suit un cours parallèle en sa morphologie et physiologie anormale, à celui de certaines tumeurs malignes chez les animaux, et par conséquent les indications que les tumeurs semblables des animaux doivent être dues à des causes semblables, sont lumineuses. Je suis convaincu, par les faits ci-dessus, que les tumeurs malignes des hommes et des animaux doivent être dues à quelque espèce de micro-organisme se trouvant dans les cellules et excitant en elles une croissance d'une rapidité foudroyante par son action sur le noyau.

Je demande à tous les spécialistes du cancer : Considérez une fois encore s'il ne serait pas possible qu'il se trouvât dans les tumeurs malignes de l'homme et des animaux un parasite obscur qui, de son avantage du terrain dans la cellule, excite le noyau en divisions anormales et rapides, et passe dans les cellules-filles au moment de cette division, et ainsi de suite à l'infini, comme c'est le cas dans la « crown gall ».

Je dois déclarer que je n'ai vu aucune indication de la présence de *Bact. tumefaciens* à l'intérieur du noyau. Mon hypothèse du développement de la tumeur est celle-ci : le micro-organisme qui pénètre dans les cellules en conséquence des blessures croît rapidement pendant un temps court. Sa croissance est alors apparemment inhibée par ses propres excrétions dont l'une est un acide (du moins dans les cultures sucrées en flacon). Il résulte de cette inhibition que beaucoup de baguettes enflent, se déforment et se ramifient de différentes manières, donnant naissance à ce que nous appelons les corps en Y. A ce point la mort s'ensuit pour beaucoup, et une période d'inactivité pour le reste. Les organismes qui sont tués, apparemment par leurs excrétions en temps de croissance, sont ceux qui alors excitent le noyau à se diviser. Cette stimulation, à mon avis, est causée par l'action des endotoxines ou d'autres substances qui passent aisément à

travers les cloisons des bactéries mortes, et arrivent, de cette façon, au noyau sensible. Aussitôt que le noyau commence à se diviser, sa membrane disparaît et son contenu se répand dans la cellule. Les bactéries paralysées prennent une nouvelle croissance sous l'influence de ces matières nucléaires répandues dans la cellule (autre hypothèse) pour entrer dans les cellules-filles. Ici la croissance est rapide pour peu de temps. Après cela, leur croissance est de nouveau inhibée avec la production de formes d'involution précédemment décrites. Le noyau dans les cellules-filles est à son tour excité à se diviser et ainsi de suite, indéfiniment. De cette manière, il est possible, par quelques piqûres qui introduisent ce parasite, d'obtenir sur des betteraves à sucre et d'autres plantes des tumeurs aussi grosses que le poing dans un espace de 6 semaines. En général la croissance est plus lente.

73 485. — Paris, Imprimerie Lahure, 9, rue de Fleurus.